



Wybrane doniesienia dotyczące terapii komórkowych — 38. Międzynarodowy Kongres *International Society of Blood Transfusion (ISBT)* w Barcelonie

Selected reports on cell therapies — 38. International Congress of the International Society of Blood Transfusion (ISBT) in Barcelona

Joanna Janus , Jolanta Antoniewicz-Papis 

Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, Warszawa

Wstęp

Międzynarodowe Towarzystwo Przetaczania Krwi (ISBT, *International Society of Blood Transfusion*), które jest wiodącym towarzystwem naukowym w zakresie transfuzjologii klinicznej i laboratoryjnej, co dwa lata organizuje światowy kongres. Trzydziesty ósmy z kolei Międzynarodowy Kongres ISBT, przygotowany wspólnie z Hiszpańskim Towarzystwem Transfuzji Krwi i Terapii Komórkowej (SETS, *Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular*), odbył się w dniach 23–27 czerwca 2024 roku w Barcelonie. Kongres jak zawsze podzielony był na kilka wydarzeń, w tym te, na których prezentowane były doniesienia lokalne (*Local Day*), wykłady edukacyjne (*Academy Day*), warsztaty oraz sesje poświęcone aktualnym doniesieniom z dziedziny transfuzjologii. Niniejsza praca dotyczy wybranych zagadnień związanych z terapiami komórkowymi przedstawionymi podczas Kongresu.

Dwie sesje wykładowe poświęcono terapiom komórkowym: pierwsza z nich dotyczyła nowych odkryć w leczeniu anemii sierpowatej, natomiast druga — tematu CAR-T (*chimeric antigen receptor T-cell*), który wciąż pozostaje jednym z najczęściej poruszanych zagadnień w kontekście terapii ko-

mórkowych. Temat terapii komórkowych omawiany był też podczas wykładów w trakcie innych sesji, na przykład sesji „*A look into the future*” poświęconej nowym odkryciom w transfuzjologii.

Podczas sesji plakatowej zaprezentowano ponad 30 plakatów z zakresu terapii komórkowych. Najczęściej poruszonymi tematami tych doniesień były między innymi pozyskanie i preparatyka komórek krwiotwórczych (KK), pozaustrojowa fotofereza (ECP, *extracorporeal photopheresis*), bankowanie tkanek i komórek, bezpieczeństwo dawców i biorców przeszczepów, a także kliniczne aspekty terapii komórkowych.

Wybrane doniesienia, zarówno z sesji wykładowych, jak i sesji plakatowej, przedstawiono poniżej.

Sesje wykładowe

Jeden z wykładów sesji o nowych terapiach komórkowych poświęcony był immunoterapii z wykorzystaniem wirusowo swoistych limfocytów T u pacjentów z obniżoną odpornością. Infuzja immunokompetentnych limfocytów dawcy (DLI, *donor lymphocyte infusion*) wspomaga leczenie biorców z obniżoną odpornością, choć wiąże się także z ryzykiem reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi (GvHD, *graft-versus-host disease*).

Adres do korespondencji: mgr Joanna Janus, Zakład Transfuzjologii, Instytut Hematologii i Transfuzjologii, ul. Indiry Gandhi 14, 02–776 Warszawa, tel. +48 22 34 96 388, e-mail: jjanus@ihit.waw.pl

Nadesłano: 19.11.2024

Przyjęto do druku: 23.11.2024

Data pierwszej publikacji: 23.12.2024

Artykuł jest dostępny bezpłatnie na podstawie licencji Creative Commons Attribution-Non-Commercial-No Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0) umożliwiającej jego pobranie oraz udostępnianie pod warunkiem wskazania autorstwa i wydawcy. Niedopuszczalne jest wprowadzanie jakichkolwiek zmian lub wykorzystanie komercyjne bez zgody wydawcy.

Istnieją jednak metody umożliwiające zwiększenie bezpieczeństwa terapii, między innymi negatywna selekcja komórek (eliminacja limfocytów naiwnych) czy modyfikacja genetyczna limfocytów, a także selekcja pozytywna. Obiecującą metodą jest selekcja wirusowo swoistych limfocytów T (VST, *virus-specific T*). Z przeprowadzonych badań wynika, że VST znacznie wspomagają leczenie opornych zakażeń wirusowych, w tym wirusa cytomegalii (CMV, *cytomegalovirus*), wirusa Epsteina–Barr (EBV, *Epstein–Barr virus*) i adenowirusowych. Limfocyty do terapii metodą VST pobierane są najczęściej od niespokrewnionych dawców allogenicznych. W celu zwiększenia dostępności terapii stworzony został rejestr dawców REDOCEL [1].

Dużym zainteresowaniem cieszyła się sesja dotycząca CAR-T, na której przedstawiono zagadnienia dotyczące poprawy efektywności aferezy, produkcji leku w małych ośrodkach oraz zastosowania klinicznego, w tym: czynników predykcyjnych zapotrzebowania na transfuzję i analizy czynników związanych z zespołem uwalniania cytokin (CRS, *cytokine release syndrome*) po terapii komórkami CAR-T.

W swoim wykładzie o optymalizacji aferezy Bönig [2] zwrócił uwagę, jak ważny w produkcji CAR-T jest pierwszy etap procesu, czyli pobranie komórek. Przedstawiono przegląd prac skupiających się na poprawie efektywności aferezy oraz wytyczne, w tym *European Society for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT), które wspomagają planowanie i właściwe ustawienie procesu aferezy. Największym wyzwaniem pozostaje separacja komórek u dzieci, choć również u dorosłych pacjentów, którzy przeszli długotrwałe leczenie, występują problemy z pobraniem wysokiej jakości materiału. Coraz częściej rozważa się też pobieranie limfocytów od dawców allogenicznych. W niektórych przypadkach wykorzystanie takiego materiału daje lepsze efekty kliniczne i oczywiście eliminuje problem aferezy u pacjenta, a co za tym idzie niskiej jakości preparatu wyjściowego. Jednak wciąż nie jest jasna kwestia kryteriów doboru dawcy i wskazania parametrów kwalifikujących do pobrania, których skutkiem jest uzyskanie „dobrego” produktu CAR-T. Do tej pory jedynymi wytycznymi producentów są informacje o konieczności pobrania określonej, minimalnej liczby limfocytów.

Skutki uboczne wciąż pozostają najbardziej dyskutowanym tematem w kontekście terapii CAR-T. W badaniu japońskiego ośrodka wykazano, że czynnikami ryzyka CRS — jednego ze skutków ubocznych stosowania CAR-T — mogą być: niska liczba płytek krwi w czasie podawania tego

preparatu, wysoka ekspresja interferonu gamma (IFN- γ) i wysoka liczba żywych komórek CAR-T (*tisagenlecleucel*). Zaobserwowano też, że w ciągu trzech dni po podaniu preparatu u pacjentów znacząco zmieniło się stężenie fosforanów i magnezu. Towarzyszyć CRS mogą również zmiany liczby krwinek, CRP (*C-reactive protein*) i markerów krzepnięcia [3].

Sesja plakatowa

W kontekście przeszczepiania komórek krwiotwórczych jednym z ważniejszych aspektów jest rekrutacja i prawidłowa kwalifikacja dawców, jak również bezpieczeństwo zarówno dawców, jak i biorców. Podczas Kongresu w Barcelonie, jak co roku, wiele prac poświęcono tym tematom. Jeden z plakatów opisywał problem, z jakim mierzył się kanadyjski rejestr dawców komórek krwiotwórczych z uwagi na różnorodność etniczną mieszkańców tego kraju. Ponieważ rozkład profili ludzkich antygenów leukocytów (HLA, *human leukocyte antigen*) różni się w zależności od pochodzenia etnicznego, zwrócono uwagę, że rekrutacja dawców powinna być dostosowana tak, aby możliwe było zrównoważenie różnorodności genetycznej dawców z rejestru. Oceniono, jak lepsze rozplanowanie działań rekrutacyjnych dawców wpłynie na zwiększenie liczby dopasowania dawców i biorców wewnątrz kraju. W tym celu opracowano model, dzięki któremu sprawdzono zależności w perspektywie 10 lat. Zaprezentowane możliwości zmiany podejścia do rekrutacji mogą przyczynić się do zwiększenia dopasowania dawców do biorców wymagających przeszczepienia KK. Jednak autorzy podkreślają, że obecnie mniej niż 30% przeszczepów KK dla Kanadyjczyków pochodzi z kanadyjskich źródeł, większość kanadyjskich pacjentów polega obecnie na dawcach z innych krajów [4].

Badania nad KK obejmują też aspekty jakościowe pobieranego i przeszczepianego materiału. Przemycanie KK wykonywane jest w przypadku preparatów pobranych od dawców allogenicznych, u których występują przeciwciała skierowane przeciwko komórkom biorcy. Istnieją różne protokoły dotyczące przemycania preparatów oraz niewiele danych na temat wpływu przemycania na wyniki kliniczne. Zespół Fernandez i wsp. [5] podjął próbę sprawdzenia wpływu przemycania rozmrożonych KK pobranych od dawców niespokrewnionych. Porównano niektóre parametry laboratoryjne i kliniczne u pacjentów, którym przeczepiono KK poddawane i niepoddawane przemycaniu. Badane parametry laboratoryjne obejmowały: liczbę bia-

łych krwinek (WBC, *white blood cells*), neutrofilii, komórek CD34+ na kilogram masy ciała biorcy, odsetek CD34+; natomiast parametry kliniczne to między innymi: dni do regeneracji układu płytkowego, liczba przetoczeń KKP i KKCz, odsetek wystąpienia ostrej GvHD, PFS (*progression-free survival*) oraz OS (*overall survival*). Przemycanie rozmrożonych KK nie wpłynęło znacząco na oceniane parametry. Zaobserwowano jednak wyższe zapotrzebowanie na przetoczenia KKP w ciągu 100 dni po transplantacji i tendencję do opóźnienia odbudowy układu płytkowego w grupie, której przeszczepiono przemycane preparaty KK [5]. Zespół pod kierownictwem Tobaliny Garcii [6] próbował natomiast odpowiedzieć na pytanie, czy całkowity odzysk komórek jądrzastych (TNC, *total nucleated cells*) po preparatyce i mrożeniu jest dobrym odzwierciedleniem jakości preparatu. Wykazano, że wysokie TNC w preparacie niekorzystnie wpływa na żywotność CD34+, a także, iż utrata TNC odbywa się głównie z powodu rozpadu granulocytów, które mają niższą tolerancję osmotyczną niż komórki CD34+. W jednej z prac porównano też dwie strategie rozmrażania KK — rozmrażanie przy łóżku pacjenta i rozmrażanie poza oddziałem (w banku komórek). Analiza nie wykazała różnic wpływu dimetylosulfotlenku (DMSO) na żywotność komórek CD34+ ani nie zauważono żadnych niepożądanych reakcji u pacjentów, w tym zwiększonego ryzyka powikłań infekcyjnych. W obu przypadkach wyniki przeszczepienia również nie wykazywały istotnych różnic. Rozmrażanie poza oddziałem jest więc tak samo bezpieczne i efektywne, jak rozmrażanie przyłóżkowe, oczywiście z zachowaniem restrykcyjnego przestrzegania czasu rozmrażania oraz czasu i warunków transportu preparatu do pacjenta. Wykonywanie tej procedury poza oddziałem eliminuje problem transportu pojemnika kriogenicznego między jednostkami, zwiększając bezpieczeństwo procedur i rozwiązując ewentualne problemy z dostępnością personelu [7].

Przeszczepienie KK uzyskanych z różnych źródeł jest zabiegiem ratującym życie wielu pacjentom onkohematologicznym. Pobranie KK z krwi obwodowej jest aktualnie najczęściej wykorzystywaną metodą pozyskiwania tego materiału na świecie. Wciąż jednak prowadzone są badania nad zwiększeniem efektywności zabiegu. Badanie antygenu CD34 w krwi obwodowej przed rozpoczęciem separacji KK jest dobrym wskaźnikiem prognozującym liczbę komórek CD34+ możliwą do uzyskania podczas aferezy. Standardowo zawartość komórek CD34+ oznaczana jest z wykorzystaniem metody cytometrycznej, jednak coraz częściej podejmo-

wa się próby wykorzystania innych metod. Yamazaki i wsp. [8] w swoim badaniu sprawdzili zawartość komórek CD34+ przed separacją i w uzyskanym preparacie za pomocą dwóch metod. Porównano wynik oznaczenia cytometrycznego z wynikiem z analizatora hematologicznego Sysmex XN, posiadającego moduł zliczania HPC (*hematopoietic progenitor cells*). Badanie przeprowadzono w dwóch grupach — u pacjentów autologicznych mobilizowanych czynnikiem wzrostu kolonii granulocytów (GCS-F, *granulocyte colony-stimulating factor*) i pleryksaforem oraz u dawców allogenicznych mobilizowanych wyłącznie GCS-F. Uzyskane rezultaty wykazały bardzo dobrą korelację między wynikami obu metod oznaczania komórek CD34+ u dawców. Sama mobilizacja ma także ogromny wpływ na wynik aferezy. W jednym z hiszpańskich ośrodków sprawdzono korelację wykorzystanego protokołu mobilizacji pacjentów autologicznych z jakością uzyskanego preparatu. Porównano preparaty z 289 aferez pobrane od dwóch grup pacjentów, głównie z rozpoznaniem szpiczaka mnogiego lub chłoniaka, mobilizowanych wyłącznie GCS-F oraz GCS-F wraz z chemioterapią. W badaniu nie uwzględniono pacjentów, którym podawano pleryksafor. Mimo że oba protokoły pozwalają przeprowadzić skuteczną aferezę, pacjenci mobilizowani wyłącznie GCS-F uzyskiwali preparaty lepszej jakości pod względem całkowitej liczby komórek jednojądrzastych (MNC, *mononuclear cells*) [9].

Mimo powszechnego wykorzystania KK z krwi obwodowej, które zdecydowanie wyparły inne źródła KK, takie jak szpik kostny czy krew pępowinowa (KP), nadal prowadzone są badania nad wykorzystaniem innego materiału niż preparaty z krwi obwodowej (PBSC, *peripheral blood stem cells*) w przypadku braku zgodnych dawców spokrewnionych i niespokrewnionych. Jedno z nich przeprowadził zespół z Korei Południowej. W swojej pracy autorzy opisali retrospektywną analizę wykorzystania KP jako materiału przeszczepowego. Do przeszczepienia wykorzystywano jedynie jednostki KP zawierające całkowitą liczbę leukocytów przynajmniej 11×10^8 . W ciągu 10 lat prowadzonej analizy wydano do przeszczepienia 825 jednostek KP, co stanowiło niespełna 2% wszystkich przechowywanych jednostek w koreańskich bankach krwi pępowinowej. Przeszczepienia wykonano u 452 pacjentów, głównie z ostrą białaczką limfoblastyczną. Pacjenci dorośli (powyżej 19. roku życia) stanowili ponad 66% grupy. W 77% przypadków przeszczepione zostały 2 porcje KP. Średnia liczba komórek CD34+ w preparacie wynosiła $5,7 \pm 3,9 \cdot 10^6$. Autorzy pracy nie przedstawili jednak efektów klinicznych

po przeszczepieniu KP. Mimo to w wielu przypadkach wykorzystanie przechowywanej KP może być alternatywą dla przeszczepienia KK z innego źródła dla pacjentów, dla których nie znaleziono zgodnych dawców rodzinnych i niespokrewnionych [10]. Ten sam zespół w swojej drugiej pracy zajął się kolejnym aspektem przeszczepiania KP, jakim jest odzyskanie komórek CD34+ z zamrożonego preparatu. Częstym problemem w przypadku długo przechowywanego materiału zawierającego KK jest jakość bankowanego materiału. Przeprowadzono analizę korelacji między odsetkiem żywych komórek CD34+ a pierwotną liczbą komórek CD34+ — przed kriokonserwacją, zależnie od czasu przechowywania (wydzielono 3 grupy: do 5 lat, od 5 lat do 10 lat, powyżej 10 lat). Wyjściowy średni odsetek żywych komórek CD34+ wynosił $91,2\% \pm 7,5\%$. Odsetek żywych komórek CD34+ zmniejszał się wraz ze wzrastającym okresem kriokonserwacji. Żywotność różniła się istotnie statystycznie między grupami: do 5 lat — $93,3\% \pm 7,2\%$; pomiędzy 5 lat a 10 lat — $90,8\% \pm 6,2\%$; powyżej 10 lat — $87,0\% \pm 9,5\%$ [11].

Krew pępowinowa może być także wykorzystywana w innych celach niż przeszczepienie KK, na przykład w medycynie regeneracyjnej jako materiał do wykonania sztucznych łez czy żeli płytkowych. Gómez-Vives i wsp. [12] opisali w swojej pracy wykorzystanie koncentratu płytek krwi z KP do wytworzenia żelu płytkowego dla pacjenta z owrzodzeniami skóry w przebiegu choroby przeszczep przeciwko gospodarzowi. Pacjentem był 19-letni mężczyzna, który 4 lata wcześniej został poddany allogenicznemu przeszczepieniu krwiotwórczych komórek macierzystych od dawcy spokrewnionego. U biorcy rozwinęła się ciężka postać GvHD z zajęciem skóry i układu kostno-stawowego, która była oporna na konwencjonalne leczenie. Dlatego zdecydowano o zastosowaniu żelu płytkowego. Do wytworzenia koncentratów płytek krwi wykorzystano KP, która jest bogatym źródłem czynników wzrostu. Otrzymany koncentrat płytkowy był dodatkowo traktowany glukonianem wapnia w celu przeprowadzenia aktywacji płytek krwi bezpośrednio przed podaniem. Preparat podawano raz w tygodniu, łącznie 29 żeli do leczenia 3 ran zlokalizowanych na kończynach dolnych pacjenta. U pacjenta zaobserwowano znaczne zmniejszenie powierzchni ran z kilkunastu-kilkudziesięciu milimetrów do kilku milimetrów. Nie zgłoszono żadnych działań niepożądanych związanych z zastosowanym leczeniem.

Dzięki sukcesowi leczenia niektórych chorób onkohematologicznych preparatami CAR-T, terapia

ta jest cały czas rozwijana, również w odniesieniu do innych chorób nowotworowych. Jedną z takich chorób jest mięsak kościopochodny. Hiszpański zespół Etxebarri i wsp. [13] opisał możliwość leczenia tego nowotworu za pomocą komórek NKG2D-CAR. Obecnie stosowane leczenie mięsaka kościopochodnego polegające na leczeniu chirurgicznym oraz chemioterapii niestety okazuje się być nieskuteczne w przypadku pacjentów z przerzutami lub nawrotem choroby. Dlatego wciąż opracowywane są nowe, alternatywne strategie leczenia, również immunoterapia oparta na CAR. W celu zmniejszenia skutków ubocznych terapii, w tym CRS i objawów neurologicznych, w opisanej terapii zastosowano komórki NK (*natural killer*) i ich receptory NKG2D. Komórki NK pozyskano z krwi pępowinowej i krwi obwodowej. Do transdukcji wykorzystano różne wzmacniacze („enhancer”) w celu otrzymania optymalnej ekspresji receptorów na powierzchni komórek NK. Szeroko omawianym tematem w kontekście CAR-T jest także sam proces tworzenia CAR, ulepszanie go i zwiększanie efektywności. Wciąż testowane są nowe strategie, w tym porównanie efektywności procesu przy użyciu różnych „enhancerów” [14].

Podsumowanie

Terapie komórkowe są bardzo dynamicznie rozwijającą się gałęzią lecznictwa. Doniesienia prezentowane podczas 38. Międzynarodowego Kongresu ISBT pokazują, jak zmienia się podejście do terapii komórkowych i jak to, co jeszcze kilka lat temu wydawało się niemożliwe, staje się rutyną. Doniesienia z tegorocznego Kongresu pokazują także, jak ważne jest doskonalenie istniejących już terapii i szukanie nowych zastosowań znanych nam materiałów, takich jak krew pępowinowa czy receptory CAR. Prezentowane doniesienia pokazują, że stałe podnoszenie jakości wykonywanych zabiegów, a co za tym idzie bezpieczeństwo pacjentów, jest głównym priorytetem dla wielu ośrodków przedstawiających swoje wyniki badań.

Konflikt interesów: nie zgłoszono

Piśmiennictwo

1. Querol S, Rudilla F, Castillo N, et al. Adoptive immunotherapy with virus-specific T cells in immunocompromised patients. *Vox Sang.* 2024; 119(S1): LD03–L01.
2. Böning HB. Characteristics of apheresis products and CAR-T cell therapeutic outcomes. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(60): PA14–L01.

3. Yoshida M, Maruoka H, Yonetani N, et al. Analysis of cytokine release syndrome related factors after chimeric antigen receptor T cell therapy. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(60): PA14–L04.
4. Blake JT, Allen D, Ganz K, et al. Evaluating the effectiveness of stem cell recruiting policies using a dynamic registry simulation. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(568): P868.
5. Fernandez J, Gomez D, Castillo-Flores N, et al. To wash or not to wash cryopreserved unrelated peripheral blood stem cells for transplantation? *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(574): P878.
6. Tobalina Garcia A, Navarro GM, Alonso JR, et al. Is total cell recovery a surrogate marker for the quality of cryopreserved peripheral blood apheresis products? *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(576): P885.
7. Bonchi C, Mele M, Prisciandaro M, et al. Bed-side versus on-site thawing of cryopreserved hematopoietic stem cells. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(583): P898.
8. Yamazaki R, Tanaka Y, Igarashi Y, et al. Possibility of Hemopoietic Progenitor Cells (HPC) as an indicator for CD34-positive cell counts in allogeneic peripheral blood stem cell harvest from G-CSF mobilized donor. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(575): P882.
9. Pedrals S, Maglio L. Relation between mobilization protocol in stem cell apheresis and product purity. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(577): P886.
10. Kim K, Goh R, Jeong J, et al. Analysis of cord blood units provided for transplantation in Korea over a 10-year period. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(569): P869.
11. Lee H, Roh E, Kim N, et al. The impact of the cryopreserved period on the percentage of viable CD34+ cells among whole CD34+ cells of CB units. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(571): P872.
12. Gómez-Vives D, Samarkanova D, Rierola M, et al. Umbilical cord blood platelet gel for cutaneous lesions in a patient with severe graft-versus-host disease. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(572): P873.
13. Etxebarria A, Herrera L, Barriales D, et al. Generating NKG2D-CAR-transduced natural killer (NK) cells for treating osteosarcoma. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(573): P876.
14. Herrera DVL, Barriales D, Etxebarria A, et al. Improving CAR-NK cells performance against target cells - comparative study of transduction enhancers in game. *Vox Sang.* 2024; 119(S1)(575): P880.